

· 研究简报 ·

# 高效液相色谱-串联质谱法分析蔬菜中残留的麦草畏

马有宁<sup>1,2</sup>, 陈铭学<sup>2</sup>, 曹赵云<sup>2</sup>, 牟仁祥<sup>2</sup>, 朱国念<sup>\*1</sup>

(1. 浙江大学 农药与环境毒理研究所, 杭州 310029;

2. 中国水稻研究所 农业部稻米及制品质量监督检验测试中心, 杭州 310006)

**摘要:** 采用高效液相色谱-串联质谱仪(HPLC-MS/MS)建立了蔬菜中麦草畏的残留分析方法,其中蔬菜基质包括白菜、黄瓜、番茄、豇豆、萝卜、芹菜和葱。样品经  $V(\text{乙腈}): V(\text{甲酸}): V(\text{水}) = 49.5:0.2:0.3$  的混合溶剂提取,并用氯化钠盐析,旋转蒸发浓缩后直接用 HPLC-MS/MS 测定。采用  $C_{18}$  色谱柱,以 5 mmol/L 的甲酸铵-甲醇为流动相,梯度法洗脱,以电喷雾负离子化模式在多反应监测模式下测定。结果表明,麦草畏在 0.005~0.5 mg/L 范围内线性关系良好,相关系数( $r$ )为 0.999 7。对空白蔬菜样品进行的 3 个水平(0.01、0.05、0.1 mg/kg)的添加回收实验结果表明,麦草畏的平均回收率和相对标准偏差( $RSD$ )分别为 80%~120% 和 0.58%~18.23%,方法检出限为 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法快速、灵敏,适用于蔬菜中麦草畏的残留分析。

**关键词:** 高效液相色谱-串联质谱; 麦草畏; 蔬菜; 残留

**DOI:** 10.3969/j.issn.1008-7303.2012.03.18

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2012)03-0349-04

## Determination of dicamba residue in vegetables using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

MA Youning<sup>1,2</sup>, CHEN Mingxue<sup>2</sup>, CAO Zhaoyun<sup>2</sup>, MOU Renxiang<sup>2</sup>, ZHU Guonian<sup>\*1</sup>

(1. Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. Rice Product Quality Inspection and Supervision Center,

Ministry of Agriculture, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

**Abstract:** An analytical method using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was developed for analysis of dicamba residue in Chinese cabbage, cucumber, tomato, cowpea, white radish, celery and shallot. The sample was extracted with  $V(\text{acetonitrile}): V(\text{formic acid}): V(\text{water}) = 49.5:0.2:0.3$  and salted-out by sodium chloride. After that, the sample was concentrated by rotary evaporator. Separation was performed on a  $C_{18}$  column with gradient elution by mobile phase of methanol and 5 mmol/L ammonium formate, and finally detected with negative-ion electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS) under multiple reaction monitoring (MRM) mode. The results showed that the linearity of method for dicamba was in the concentration range of 0.005 to 0.5 mg/L with the correlation coefficients of 0.999 7. The mean spiked recoveries of dicamba at 3 spiked levels (0.01, 0.05, 0.1 mg/kg) ranged from 80% to 120% with relative standard deviations ( $RSD, n=3$ ) of 0.58%–18%. The limit of detection was 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

收稿日期: 2012-02-06; 修回日期: 2012-03-12.

作者简介: 马有宁, 女, 回族, 博士研究生, **E-mail:** youning\_33319850719@126.com; \* 通信作者 (Author for correspondence): 朱国念, 男, 博士, 教授, 博士生导师, **E-mail:** zhugn@zju.edu.cn

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2009RG006-1).

for dicamba. The method is rapid, sensitive and suitable for determination of dicamba in vegetables.

**Key words:** high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; dicamba; vegetables; residue

麦草畏(3,6-二氯-2-甲氧基苯甲酸)属于苯甲酸类激素型除草剂,具有内吸传导作用,可有效防除一年生和多年生阔叶杂草。麦草畏极易溶于水,在农田生态系统中易发生迁移而引起土壤、地下水等污染<sup>[1]</sup>。Gonzalez等通过体外培育人类淋巴细胞实验发现,200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的麦草畏可显著诱导姊妹染色体的交换,而500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的麦草畏不仅可导致细胞中毒,同时会影响细胞的循环进程<sup>[2]</sup>。欧盟等已对麦草畏制定了严格的残留限量标准(MRL),规定其在大多数农产品中的MRL值为0.05  $\text{mg}/\text{kg}$ <sup>[3]</sup>;而我国尚未制定其在蔬菜中的MRL值。

目前对麦草畏的残留分析主要是采用气相色谱(GC)、高效液相色谱(HPLC)及气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术。采用GC法测定时,因麦草畏的极性较强及难以汽化,需先对其进行复杂的衍生化处理,再结合电子捕获检测器或质谱检测器测定<sup>[4-8]</sup>;而采用HPLC测定时,常需采用液-液萃取、固相萃取等前处理技术再结合紫外检测器进行分析,所需试剂量大,操作步骤多<sup>[1,9]</sup>。高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)技术具有高选择性、高灵敏度等特点,有文献报道液相色谱-电喷雾离子源-串联质谱(LC-ESI-MS/MS)可用于检测大豆、稻米中的麦草畏残留<sup>[10-12]</sup>。

笔者采用 $V(\text{乙腈}):V(\text{甲酸}):V(\text{水})=49.5:0.2:0.3$ 的混合溶剂提取,并用氯化钠盐析,通过高效液相色谱-串接质谱(HPLC-MS/MS)快速检测,建立了麦草畏在蔬菜中的残留分析方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与设备

Surveyor系列液相色谱仪及TSQ Quantum Access Max三重四级杆质谱仪附电喷雾离子源(美国Thermo Fisher公司);T25均质机(德国IKA公司)。

### 1.2 试剂与材料

麦草畏(dicamba)标准品,纯度99%(美国Accustandard Inc.公司);甲醇为色谱纯(德国Merck公司);乙腈为农残级(Scharlau Chemie S. A., Spain);甲酸铵为分析纯(美国Fluka公司);甲酸为色谱纯,质量分数为96%(美国Tedia公司);实验室用水为Milli-Q高纯水。

蔬菜基质样品从浙江省富阳市农贸市场随机抽取,包括白菜、黄瓜、番茄、豇豆、萝卜、芹菜和葱,分别代表白菜类、瓜类、茄果类、根菜类、豆类、绿叶菜类和葱蒜类。

### 1.3 标准溶液的配制

称取10  $\text{mg}$ (精确至0.01  $\text{mg}$ )麦草畏标准品,用 $V(\text{丙酮}):V(\text{甲苯})=3:7$ 的溶液定容至10  $\text{mL}$ ,配成质量浓度为1 000  $\text{mg}/\text{L}$ 的标准储备液,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存,使用时用甲醇逐级稀释成所需浓度的工作溶液。

### 1.4 样品前处理

称取经粉碎、均匀的蔬菜样品25  $\text{g}$ (精确至0.01  $\text{g}$ )于250  $\text{mL}$ 离心管中,加入50  $\text{mL}$ 乙腈(其中含10  $\text{mol}/\text{L}$ 甲酸水溶液0.5  $\text{mL}$ ),在高速分散机中于10 000  $\text{r}/\text{min}$ 下匀浆1  $\text{min}$ ;加入5  $\text{g}$ 氯化钠,再在10 000  $\text{r}/\text{min}$ 下匀浆1  $\text{min}$ ,最后在3 450  $\text{r}/\text{min}$ 下离心3  $\text{min}$ 。取5  $\text{mL}$ 上清液,在50  $^{\circ}\text{C}$ 水浴下浓缩近干,加入5  $\text{mL}$ 甲醇,过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,供HPLC-MS/MS测定。

### 1.5 HPLC-MS/MS分析条件

ZORBAX Eclipse XDB- $\text{C}_{18}$ 色谱柱(150  $\text{mm} \times 2.1\text{ mm}$ ,3.5  $\mu\text{m}$ );流动相A:5  $\text{mmol}/\text{L}$ 的甲酸铵水溶液,流动相B:甲醇。梯度洗脱程序:1~8  $\text{min}$ ,体积分数为90%~20%的A,保持2  $\text{min}$ ;10.1~12  $\text{min}$ ,20%~10%的A;12.1~18  $\text{min}$ ,90%的A;流速0.2  $\text{mL}/\text{min}$ ,柱温30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量5  $\mu\text{L}$ 。

电喷雾离子源(ESI<sup>-</sup>);喷雾电压2 200  $\text{V}$ ;鞘气压力5 250  $\text{kPa}$ ;辅助气流量1.5  $\text{mL}/\text{min}$ ;离子传输管温度300  $^{\circ}\text{C}$ 。

麦草畏的质谱参数:采用多反应监测模式,其中以218.9/174.98作为监测离子对,补偿电压(tube lens)为54  $\text{V}$ ,碰撞能量(collision energy)为8  $\text{V}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 HPLC-MS/MS分析条件优化

采用蠕动泵注射方式对麦草畏标准品进样,首先对母离子进行扫描优化,发现麦草畏在负离子模式下具有更高的响应值,为 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 峰。通过子离子扫描发现,麦草畏的 $\text{MS}^2$ 主要产生 $m/z$  174.98和145.16的子离子(见图1)。碎裂途径(图2)表

明,母离子  $m/z$  218.9 为麦草畏的  $[M - H]^-$  峰,首先通过脱羧  $[M - H - CO_2]^-$  形成  $m/z$  174.9 子离子碎片,再脱掉甲氧基  $[M - H - CO_2 - OCH_3]^-$  形成  $m/z$  144.9 子离子碎片<sup>[12]</sup>。但从图 1 中可以看出,子离子 145.16 峰值很小,仅占子离子 174.98 丰度的 10% 左右,因此,实验选择  $m/z$  218.9/174.98 作为麦草畏的监测离子对。

在 HPLC-MS/MS 分析中,流动相能够影响分析物的离子化效率,从而引起灵敏度的变化。本研究采用不同浓度(1、3、5 mmol/L)的甲酸铵溶液进行了色谱条件优化,结果表明:随水相中无机盐浓度的增加,目标化合物的灵敏度增加,信号强度可达到  $e^5$ ,且在色谱分离中减小了色谱峰的拖尾现象。

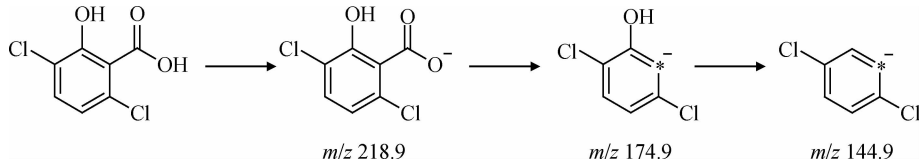


图 2 麦草畏的碎裂途径

Fig. 2 Fragmentation pathways for dicamba

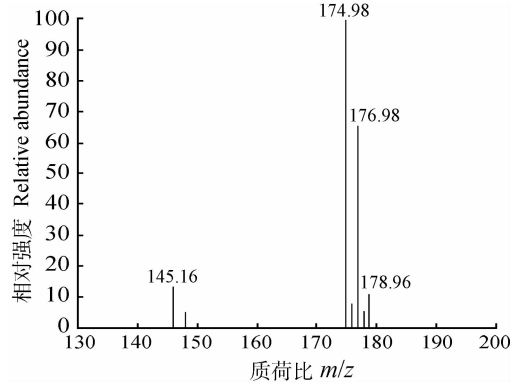


图 1 负离子模式下麦草畏的  $MS^2$  扫描质谱图

Fig. 1  $MS^2$  spectra of dicamba in negative ion mode

## 2.2 样品提取体系的研究

麦草畏属于苯甲酸类除草剂,其  $pK_a$  值为 1.9,在碱性条件下易离解成盐而溶于水相中,故可向样品的提取液乙腈<sup>[12]</sup>中加入适量的酸来抑制麦草畏的离解,从而增强麦草畏向有机相中的分配比例<sup>[11]</sup>。分别向 50 mL 乙腈中加入 1、3、5、10 和 25 mol/L 的甲酸水溶液 0.5 mL,以研究乙腈中加入不同浓度的甲酸水溶液后对麦草畏的提取效果,结果发现:麦草畏的回收率随着提取液中甲酸浓度的增加而增大,当加入 10 mol/L 的甲酸时,麦草畏的回收率可达到 95%。故选择提取液乙腈-甲酸-水三项的体积比为 49.5:0.2:0.3。

## 2.3 方法的线性范围

在本方法所确定的色谱、质谱条件下,分别测定 0.005、0.01、0.025、0.05 及 0.5 mg/L 的麦草畏标准溶液的峰面积,以定量离子的峰面积对麦草畏的质量浓度绘制标准曲线。结果表明,在 0.005 ~ 0.5 mg/L 范围内,麦草畏的质量浓度与峰面积呈良好的线性关系,相关系数( $r$ )为 0.999 7。

## 2.4 方法的准确度、精密度和检出限

在常见的 7 种蔬菜中进行 3 个水平的麦草畏添加回收率实验,每个水平 3 次重复。结果(表 1)表明,麦草畏在 0.01 ~ 0.1 mg/kg 范围内的平均回收率在 80% ~ 120% 之间,相对标准偏差( $RSD$ )为

表 1 麦草畏在蔬菜中的添加回收率和相对标准偏差  
Table 1 Recoveries of fortified vegetables samples at different level and  $RSD$  for dicamba

样品 Samples	添加水平 Spiked levels/ (mg/kg)	平均回收率 Mean recovery/ %	相对标准偏差 $RSD$ / %
白菜 Chinese cabbage	0.01	88	6.66
	0.05	96	0.58
	0.1	89	2.08
黄瓜 Cucumber	0.01	91	5.57
	0.05	118	3.51
	0.1	105	8.37
萝卜 White radish	0.01	104	18.23
	0.05	94	4.36
	0.1	95	4.73
番茄 Tomato	0.01	120	6.81
	0.05	106	3.61
	0.1	104	5.57
豇豆 Cowpea	0.01	108	6.03
	0.05	96	4.36
	0.1	88	5.20
芹菜 Celery	0.01	88	4.36
	0.05	82	4.36
	0.1	91	2.08
葱 Shallot	0.01	86	4.35
	0.05	80	0.58
	0.1	93	4.16

0.58% ~ 18.23%。麦草畏的检出限(LOD)为 0.002 mg/kg。芹菜中添加麦草畏样品和空白样品的多反应监测图谱见图 3。

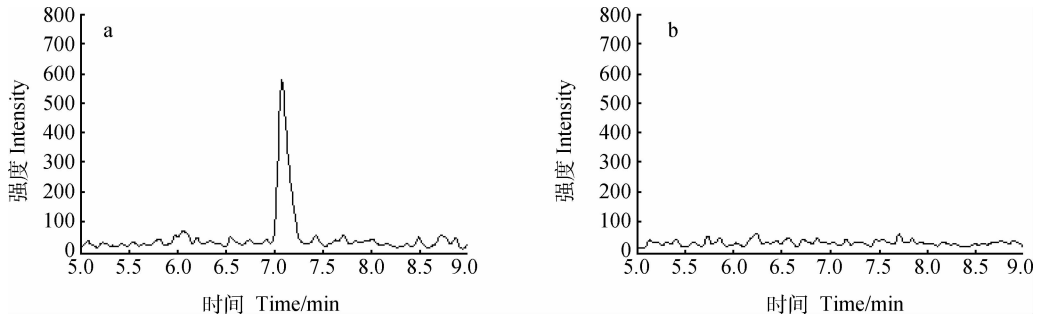


图3 芹菜中添加麦草畏标准品(0.01 mg/kg) (a) 和芹菜空白样品(b)的 HPLC-MS/MS 色谱图

Fig. 3 HPLC-MS/MS chromatograms for (a) celery sample spiked at 0.01 mg/kg and (b) celery blank sample

### 3 结论

研究建立了采用 HPLC-MS/MS 测定蔬菜中麦草畏残留量的方法。样品采用 V(乙腈): V(甲酸): V(水) = 49.5:0.2:0.3 的混合溶剂提取,再用氯化钠盐析后不经净化直接采用 HPLC-MS/MS 测定。在市售蔬菜中进行的麦草畏添加回收实验结果表明,在 0.01 ~ 0.1 mg/kg 范围内,麦草畏的平均添加回收率为 80% ~ 120% 之间, RSD 在 0.58% ~ 18.23% 之间。麦草畏的检出限为 0.002 mg/kg。与常用的液-液萃取、固相萃取以及分散固相萃取方法相比,该前处理方法操作步骤简单、快速、灵敏度高,能够满足蔬菜中麦草畏的残留分析要求。

### 参考文献 (Reference):

- [1] SHIN E H, CHOI J H, ABD EI-ATY A M, *et al.* Simultaneous determination of three acidic herbicide residues in food crops using HPLC and confirmation via LC-MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25(1-2): 124-135.
- [2] GONZÁLEZ N, SOLONESKI S, LARRAMENDY M. Genotoxicity analysis of the phenoxy herbicide dicamba in mammalian cells *in vitro* [J]. *Toxicol in Vitro*, 2006, 20(8): 1481-1487.
- [3] 食品安全网农药残留限量查询. 欧盟麦草畏 [DB/OL] (2008-06) [2012-05]. <http://www.tbt-sps.gov.cn/foodsafe/xbzb/Pages/pesticide.aspx>  
Pesticide Residue Level Databases in Food Safety Net. Dicamba in the European Union [DB/OL] (2008-06) [2012-05]. <http://www.tbt-sps.gov.cn/foodsafe/xbzb/Pages/pesticide.aspx>. (in Chinese)
- [4] 蒋茵, 王华顶. 毛细管气相色谱法重氮甲烷分析麦草畏 [J]. *安徽化工*, 2003, 124(4): 50.  
JIANG Hong, WANG Huading. Capillary gas chromatography analysis of dicamba derivatization with dimethane [J]. *Anhui Chem Ind*, 2003, 124(4): 50. (in Chinese)
- [5] 赵守成, 董振林, 卫锋, 等. 甲基化处理气相色谱-质谱法同时检测大米中 12 种酸性除草剂 [J]. *质谱学报*, 2005, 26(4): 206-210.
- [6] ZHAO Choucheng, DONG Zhenlin, WEI Feng, *et al.* Simultaneous determination of twelve acid herbicides in rice by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chinese Mass Spectrom Soc*, 2005, 26(4): 206-210. (in Chinese)
- [7] 匡华, 侯玉霞, 储晓刚, 等. 气相色谱-质谱法同时测定大豆中 14 种苯氧羧酸类除草剂 [J]. *分析化学*, 34(12): 1733-1736.  
KUANG Hua, HOU Yuxia, CHU Xiaogang, *et al.* Simultaneous determination of phenoxyacid herbicides in soybean by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese J Anal Chem*, 34(12): 1733-1736. (in Chinese)
- [8] RAEPPEL C, NIEF M, FABRITIUS M, *et al.* Simultaneous analysis of pesticides from different chemical classes by using a derivatisation step and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(44): 8123-8129.
- [9] QUINTANA J B, RODIL R, MUNIATEGUI-LORENZO S, *et al.* Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1174(1-2): 27-39.
- [10] TRAN A, HYNE R V, DOBLE P. Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage waters in Australia by HPLC [J]. *Chemosphere*, 2007, 67(5): 944-953.
- [11] 储晓刚, 雍炜, 凌云, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时测定大豆中 107 种除草剂残留 [J]. *分析化学*, 2008, 36(3): 325-329.  
CHU Xiaogang, YONG Wei, LING Yun, *et al.* Simultaneous determination of 107 herbicides in soybean by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chinese J Anal Chem*, 2008, 36(3): 325-329. (in Chinese)
- [12] 牟仁祥, 陈铭学. 稻米中 13 种苯氧羧酸类除草剂多残留的高效液相色谱-质谱测定 [J]. *分析测试学报*, 2008, 27(9): 973-976.  
MOU Renxiang, CHEN Mingxue. Simultaneous determination of phenoxyacid herbicides in rice by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2008, 27(9): 973-976. (in Chinese)
- [13] KOESUKWIWAT U, SANGUANKAEW K, LEEPIPATPIBOON N. Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 626(1): 10-20.

(责任编辑: 金淑惠)